

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 8 月 25 日 (25.08.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/077378 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 31/593, A61P 3/02, 3/14
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/002959
- (22) 国際出願日: 2005 年 2 月 17 日 (17.02.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2004-041202 2004 年 2 月 18 日 (18.02.2004) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): メルシャン株式会社 (MERCIAN CORPORATION) [JP/JP]; 〒104-8305 東京都中央区京橋1丁目5番8号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 内藤 善久 (NAITO, Yoshihisa) [JP/JP]; 〒022-0101 岩手県大船渡市三陸町越喜来字肥の田24-11 Iwate (JP). 山岸 則夫 (YAMAGISHI, Norio) [JP/JP]; 〒080-0026 北海道帯広市西16条南6丁目19-9 ファミール166 202号 Hokkaido (JP). 大倉 徳太 (OKURA, Norimoto) [JP/JP]; 〒078-8822 北海道旭川市西御料2条1丁目8番13号 Hokkaido (JP).
- (74) 代理人: 大家 邦久 (OHIE, Kunihisa); 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町2丁目14番6号 セルバ人形町6階 大家特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF PREVENTING, MEDICATING AND/OR TREATING HYPOCALCAEMIA OF DOMESTIC MAMMAL

(54) 発明の名称: 家畜哺乳動物の低カルシウム血症の予防、治療および/または処置方法

(57) Abstract: It is intended to provide a method of preventing, medicating and/or treating hypocalcaemia of a domestic mammal, in particular, bovine. More specifically speaking, a method of administering a vitamin D derivative for preventing, medicating and/or treating hypocalcaemia characterized by comprising intravaginally administering a vitamin D derivative, in particular, 1 α -hydroxyvitamin D₃ and/or 1,25-dihydroxyvitamin D₃ to a domestic mammal.

(57) 要約: 本発明は、家畜哺乳動物、特に牛の低カルシウム血症の疾病を予防、治療および/または処置する方法を提供する。具体的には、ビタミンD誘導体、特に1 α -ヒドロキシビタミンD₃および/または1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の疾病を予防、治療および/または処置するビタミンD誘導体の投与方法である。

WO 2005/077378 A1

明細書

家畜哺乳動物の低カルシウム血症の予防、治療および／または処置方法

5 技術分野

本発明は家畜動物の低カルシウム血症の予防、治療および／または処置方法に関する。さらに詳しく言えば、本発明は家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与してその低カルシウム血症を予防、治療および／または処置する方法に関するものである。

10

背景技術

乳牛における分娩性低カルシウム血症に対する予防、治療および／または処置法の一つとして一般的にビタミンD₃（以下、VD₃と略記することがある。）が使用されている。

15 VD₃は、肝臓において25-ヒドロキシビタミンD₃へ代謝され、腎臓においてさらに1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃（以下、1, 25-(OH)₂D₃と略記することがある。）へ代謝される。

カルシウム代謝を調節するVD₃代謝物の中でも生理学的に最も活性な1, 25-(OH)₂D₃を乳牛へ投与し低カルシウム血症を予防、治療および／
20 または処置する方法も試みられている（特開昭61-233620号公報（関連出願：米国特許第322462号）およびGast et al., J. Dairy Sci. 62巻：1009～1013頁，1979年参照）。

薬物の投与を膣を経由して行うことは、古代エジプト時代から知られている。前世紀には、ヒトと動物でエストロジェン、プロジェステロン、プロスタグランジン、抗生物質、ノノキシノール9、メタゾン、無機化合物などの
25 多くの物質の膣からの吸収が確認されている。

近年、牛において発情周期の調節のためにプロジェステロンを含んだ膣内挿入物が広く用いられている（特表 2001-523515 号公報（関連出願：国際公開第 99/26556 号パンフレット）および J. Dairy Sci. 70 巻:2162～2167 頁，1987 年参照）。

- 5 1, 25-(OH)₂D₃は、乳牛の分娩性低カルシウム血症の予防、治療および／または処置のために、静脈、筋肉および経口投与法で用いられてきたが、その膣内投与の有効性について知見は得られていない。

発明の開示

- 10 本発明の課題は、家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与することにより、家畜哺乳動物の低カルシウム血症、特に牛の死亡および廃用の主要原因の一つである分娩時起立不能症等の疾病を容易に予防、治療および／または処置する方法を提供することにある。

- 15 本発明者らは、脂溶性ビタミンであるビタミンD、AおよびE類を牛に経膣投与しその吸収性について鋭意研究した結果、これら脂溶性ビタミン類の吸収性は一般に低い、特定のビタミンD誘導体のみが良好に膣から容易に吸収され低カルシウム血症の疾病の予防、治療および／または処置に有効であるとの知見を得て本発明を完成した。

- 20 すなわち、本発明は、家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与することにより家畜哺乳動物、例えば牛、馬、羊、山羊、豚、犬、猫の低カルシウム血症の疾病（特に牛の起立不能症等）の予防、治療および／または処置に有用な、下記1～15のビタミンD誘導体の投与方法を提供するものである。

1. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の予防方法。
- 25 2. 家畜哺乳動物が牛である前記1に記載の低カルシウム血症の予防方法。
3. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する前記1または2に

記載の低カルシウム血症の予防方法。

4. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を予防する前記1乃至3のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

5 5. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である前記1乃至4のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

6. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の治療方法。

10 7. 家畜哺乳動物が牛である前記6に記載の低カルシウム血症の治療方法。

8. ビタミンD誘導体を含む腔内挿入物を腔へ投与する前記6または7に記載の低カルシウム血症の治療方法。

15 9. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を治療する前記6乃至8のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の治療方法。

10. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である前記6乃至9のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の治療方法。

20 11. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の処置方法。

12. 家畜哺乳動物が牛である前記11に記載の低カルシウム血症の処置方法。

13. ビタミンD誘導体を含む腔内挿入物を腔へ投与する前記11または12に記載の低カルシウム血症の処置方法。

25 14. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を処置する前記11乃至1

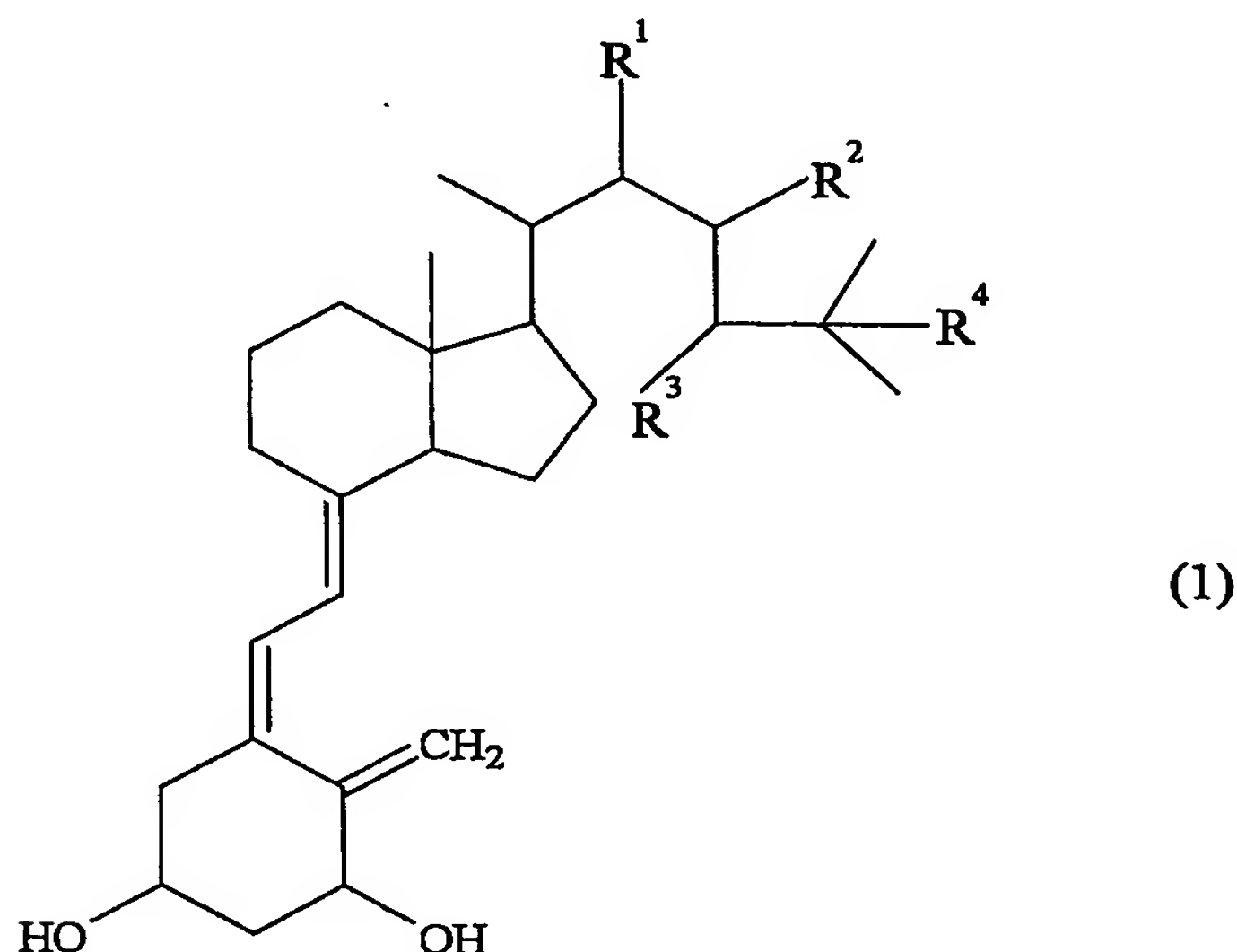
3 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

1 5. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である前記 1 1 乃至 1 4 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

5

発明の詳細な説明

本発明で、家畜哺乳動物の腔腔に投与するビタミンD誘導体としては、下記一般式 (1)



- 10 (式中、 R^1 および R^2 はそれぞれ水素原子を表わすか、または R^1 と R^2 とは一緒になって二重結合を形成していてもよく、 R^3 は水素原子またはメチル基を表わし、 R^4 は水素原子またはヒドロキシル基を表わす。) で示されるビタミンD誘導体が挙げられる。

- 15 上記一般式 (1) で示されるビタミンD誘導体の具体例としては、 R^1 と R^2 とが一緒になって二重結合を形成し R^3 がメチル基を表わすカルシフェロール誘導体 (ビタミンD₂誘導体)、 R^1 、 R^2 および R^3 がそれぞれ水素原子を表わすコレカルシフェロール誘導体 (ビタミンD₃誘導体) が挙げられる。

これらビタミンD₂誘導体およびビタミンD₃誘導体の中でも、1 α -ヒドロキシビタミンD誘導体および/または1, 25-ジヒドロキシビタミンD誘導体が好ましく、その代表例として、1 α -ヒドロキシビタミンD₂、1 α -ヒドロキシビタミンD₃、1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃が挙げられる。

腔腔への投与は、ビタミンD誘導体を含んだ腔内挿入物を用いて行われる。腔内挿入物の形態（デリバリータイプ）としては一般に用いられている、ジェル、タブレット、マイクロスフェア、C I D Rなどを利用することができる。

10 ビタミンD誘導体の腔粘膜からの吸収は、腔腔に投与したビタミンD誘導体と数種のミネラル（カルシウム（C a）、無機リン（i P）およびマグネシウム（M g））の変化を観察することにより確認することができる。

例えば牛の腔腔に、エタノールの溶解した1, 25-（OH）₂D₃を体重1 k gあたり1 μ g程度の割合で腔内に投与し、エタノールを投与した対照
15 と比較することにより確認できる。

1, 25-（OH）₂D₃を投与した牛は、血漿1, 25-（OH）₂D₃値が変動し、血漿C a値、血漿i P値、血漿M g値が変動する。その血漿1, 25-（OH）₂D₃値の変動を観測することにより、1, 25-（OH）₂D₃の吸収を確認することができる。

20

図面の簡単な説明

図1は、実施例1における1 α -VD₃の腔内投与による各供試牛（C o w A、C o w B）ごとの血中1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃（1, 25-（OH）₂D₃）濃度の経時的な推移を示す。

25 図2は、実施例1における1 α -VD₃の腔内投与による各供試牛（C o w A、C o w B）ごとの血中カルシウム（C a）濃度の経時的な推移を示す。

図3は、実施例1における $1\alpha\text{-VD}_3$ の腔内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中無機リン(iP)濃度の経時的な推移を示す。

図4は、実施例1における $1\alpha\text{-VD}_3$ の腔内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中マグネシウム(Mg)濃度の経時的な推移を示す。

5 図5は、比較例1におけるVitAD₃Eの腔内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中ビタミンA(VitA)濃度の経時的な推移を示す。

図6は、比較例1におけるVitAD₃Eの腔内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中ビタミンE(VitE)濃度の経時的な推移を示す。
10

図7は、比較例1におけるVitAD₃Eの腔内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中25-ヒドロキシビタミンD₃(25-OHD₃)濃度の経時的な推移を示す。

図8は、実施例2において1, 25-(OH)₂D₃(n=5; ●)および
15 エタノール(n=1; ■)を腔内に投与された育成雌牛における血漿1, 25-(OH)₂D₃濃度の経時的変化を示す。

図9は、実施例2において1, 25-(OH)₂D₃(n=5; ●)および
エタノール(n=1; ■)を腔内に投与された育成雌牛における血漿ミネラル(Ca、iPおよびMg)濃度の経時的変化を示す。

20 図10は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を腔内に投与された育成雌牛における血漿1, 25-(OH)₂D₃濃度の経時的推移を示す。ただし、図10中、「iv」は静脈投与を示している(図11～図16においても同じ。)

図11は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を腔内に投与された
25 育成雌牛における血漿Ca濃度の経時的推移を示す。

図12は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を腔内に投与された

育成雌牛における血漿 iP 濃度の経時的推移を示す。

図 1 3 は、実施例 3 において $1, 25-(OH)_2D_3$ を膈内に投与された育成雌牛における血漿 Mg 濃度の経時的推移を示す。

図 1 4 は、実施例 3 において $1, 25-(OH)_2D_3$ を膈内に投与された育成雌牛における尿 Ca / クレアチニン (Cre) 値の経時的推移を示す。

図 1 5 は、実施例 3 において $1, 25-(OH)_2D_3$ を膈内に投与された育成雌牛における尿 iP / クレアチニン (Cre) 値の経時的推移を示す。

図 1 6 は、実施例 3 において $1, 25-(OH)_2D_3$ を膈内に投与された育成雌牛における尿 Mg / クレアチニン (Cre) 値の経時的推移を示す。

10

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例および比較例を挙げて本発明を更に説明するが、本発明はこれらによってなんら限定されるものではない。下記の例において、血漿 $1, 25-(OH)_2D_3$ 濃度の測定は放射免疫キット ($1, 25-(OH)_2D_3$ RIA kit, Immunodiagnostic Systems Limited, UK) を用いて行った。血漿および尿中の、 Ca 濃度はオルトクレゾールフタレイン コンプレクソン ($OCPC$; orthocresolphthalein complexone) 法により、無機リン (iP) 濃度はモリブデン (Mo) 法により、マグネシウム (Mg) 濃度はキシリジルブルー ($xylyl blue$) 法により測定した。尿中クレアチニン濃度はヤッフエ (Jaffé) 法によって測定した。尿中のカルシウム (Ca)、無機リン (iP)、およびマグネシウム (Ma) 濃度は、クレアチニン (Cre) に対する比 (それぞれ Ca/Cre 、 iP/Cre 、および Ma/Cre) で示した。

15
20

実施例 1

25 1α -ヒドロキシビタミン D_3 を牛の膈腔に投与し血液生化学的変化を観察した。

供試動物として、下記ホルスタイン種乳牛2頭（Cow AおよびCow B）を使用した。試験期間中、屋外パドックにて乾草の自由採食（自由飲水）・配合飼料2 kg／日（DM中TDN64.1%，CP13.6%，Ca0.2%，Mg0.09%，K1.39%）として飼養した。

5 Cow A：2歳11ヶ月齢，雌，1産，卵巢摘出済み，560 kg

Cow B：2歳10ヶ月齢，雌，1産，卵巢摘出済み，580 kg

下記の供試薬剤を用いた。

1 α -ヒドロキシビタミンD₃（1 α -VD₃；日清ファルマ製，粉体）

試験内容およびスケジュールは下記のとおりとした。

10 1. 対照試験：20%エタノール4 mL腔内投与（1週間）

2. 1 α -VD₃試験：1 α -VD₃ 1 μ g／kg（体重比）を20%エタノール4 mLに溶解して腔内投与（2週間）

下記の方法で腔内投与した。

15 供試牛を予め排尿させ、氷水上にて上記試薬を調製後、10 mLプラスチック・シリンジにて腔内深部に投与し、直ちに瞬間接着剤にて外陰部皮膚を閉鎖した。

各試験における採血時間は、投与直前（0 hr）と投与後0.5、1、2、3、6、12、24、48、72時間（hrs）とした。

下記の項目について血液生化学的検査を行った。

20 対照試験：1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ [1, 25-(OH)₂D₃]、カルシウム（Ca）、無機リン（iP）、マグネシウム（Mg）。

1 α -VD₃試験：1, 25-(OH)₂D₃、Ca、iP、Mg。

25 得られたデータの解析は、供試牛ごとに1 α -VD₃試験の各血液生化学的検査成績を対照試験の成績と比較し、各薬剤の腔内吸収の有無を検討することにより行った。

上記方法により1 α -VD₃の腔内投与による血中1, 25-(OH)₂D₃、

C a、i PおよびM g 濃度の推移を観測した。1 α -V D₃を腔内投与した場合における濃度推移の観測成績を図1～図4に示す。

本実施例1の成績と下記比較例1の成績を比較考察すると、1 α -V D₃の腔内投与では、1 α -V D₃は腔壁より体内に吸収され、1, 25-(OH)₂D₃へ速やかに変換されることによりC a代謝に影響を与えることが分かる。

下記比較例1のビタミンA、ビタミンD₃、ビタミンEの腔内投与では、投与した薬剤が腔壁から吸収された証拠は確認されなかった。

比較例1

10 供試薬剤、試験内容および血液生化学的検査項目を下記(1)～(3)に記載のとおりとした以外は実施例1と同様にして、ビタミンA、ビタミンD₃、ビタミンEを牛の腔腔に投与し、投与後の血液生化学的な変化を観測した。

(1) 供試薬剤

ビタミンA (V i t A ; 薬剤製造用原体、液体)、
15 ビタミンD₃ (V i t D₃ ; 薬剤製造用原体、液体)、
ビタミンE (V i t E ; 薬剤製造用原体、液体)。

(2) 試験内容

V i t A D₃ E試験 : 1頭当たりV i t A (1000万IU) + V i t D₃ (500万IU) + V i t E (920IU) を20%エタノールにて8mLにメ
20 スアップして腔内投与

(3) 血液生化学的検査項目

対照試験 : V i t A、25-ヒドロキシビタミンD₃ (25-OHD₃)、V i t E、カルシウム (C a)、無機リン (i P)、マグネシウム (M g)。

V i t A D₃ E試験 : V i t A、25-OHD₃、V i t E。

25 得られたデータの解析は、供試牛ごとにV i t A D₃ E試験の各血液生化学的検査成績を対照試験の成績と比較し、各薬剤の腔内吸収の有無を検討する

ことにより行った。

上記方法により $VitAD_3E$ の腔内投与による血中 $VitA$ 、 $25-OH D_3$ および $VitE$ 濃度の推移を観測した。 $VitAD_3E$ を腔内投与した場合における濃度推移の観測成績を図 5～図 7 に示す。

- 5 本比較例 1 の成績と前記実施例 1 の成績を比較考察すると、実施例 1 の $1\alpha-VD_3$ の腔内投与では、 $1\alpha-VD_3$ は腔壁より体内に吸収され、 $1, 25-(OH)_2D_3$ へ速やかに変換されることにより Ca 代謝に影響を与えることが分かるが、比較例 1 の $VitAD_3E$ の腔内投与では、投与薬剤が腔壁から吸収された証拠は確認されなかった。

10

実施例 2

牛の腔腔に投与した $1, 25-(OH)_2D_3$ の腔吸収を確認するために、 $1, 25-(OH)_2D_3$ を雌牛の腔内に投与した後の $1, 25-(OH)_2D_3$ とミネラルの血液生化学的な変化を観測した。

- 15 臨床的に健康な 6 頭のホルスタイン種雌牛（3～6 ヶ月齢、体重 $97 \sim 118 \text{ kg}$ ）を同じ囲いの中で、ミネラル摂取量が日量 $Ca 21 \text{ g}$ 、 $P 13 \text{ g}$ 、 $Mg 4 \text{ g}$ で $NR C$ （National Research Council）の要求量を満たす飼料（乾物としてイネ科牧草 1.56 kg 、配合飼料 0.55 kg 、アルファルファヘイキューブ 1.44 kg ）を毎日与えて、水は自由飲水として飼い、少なくとも 1 週間
20 飼い馴らした。

5 頭の雌牛各々に、体重 1 kg あたり $1 \mu\text{g}$ の $1, 25-(OH)_2D_3$ （メルシャン（株）製の結晶を 99% エタノールにて 1 mg/mL の濃度になるように溶解し、使用直前まで -20°C にて冷凍保存したもの）を腔内投与した。

- 25 腔内投与は、 14 ゲージ 64 mm 長の注射用留置針の外套（Surflo, Terumo Co. Ltd., Tokyo）とプラスチックポンプ（Top Plastic Syringe, Top Surgical

Taiwan Corporation, Taiwan) を用いて行った。

他の1頭の雌牛には、対照として99%エタノール3.0mLを投与した。

ヘパリン加血液サンプルは、投与直前(0hr)と投与後2、6、12、24、48、72および96時間に頸静脈から採取した。

- 5 血液生化学値は、平均値±標準偏差として表現した。1, 25-(OH)₂D₃ 膣内投与の効果を見るために反復測定分散分析を用い、効果が有意であった場合には0時の値と投与後のそれぞれの値をDunnett's多重比較により検定した。有意差は、P<0.05とした。

- 1, 25-(OH)₂D₃を膣内投与した雌牛において、血漿1, 25-(OH)₂D₃、Ca、iPおよびMg濃度に有意な変化が認められたが、これら
10 変動する血漿濃度は、iPを除いてエタノール投与による影響を受けなかった(図8および図9)。

- 図8から明らかなように、1, 25-(OH)₂D₃を膣内投与した雌牛における血漿1, 25-(OH)₂D₃濃度の値は、0時の値に比べ有意(b) P
15 <0.01)な変化が認められる。

また、図9から明らかなように、1, 25-(OH)₂D₃を膣内投与した雌牛における血漿ミネラル(Ca, iPおよびMg)濃度の値は、0時の値に比べ有意(a) P<0.05, b) P<0.01)な変化が認められる。

- 血漿1, 25-(OH)₂D₃は、投与前(0時間)に88.3±20.3pg/mL
20 Lであったものが1, 25-(OH)₂D₃を投与後6時間には1967.4±1139.6pg/mLへと有意(P<0.01)に増加して高まり、その後低下した。

1, 25-(OH)₂D₃投与雌牛の血漿Ca濃度は、投与前値(10.4±0.4mg/dL)に比べ投与後12~72時間で有意(P<0.01)に高く、24時間には最高値(11.96±0.7mg/dL)を示した。

- 25 1, 25-(OH)₂D₃を投与した雌牛において観察された血漿iP濃度の変動は、エタノール投与を受けた1頭のものと同様であった。

血漿 i P 値は、0 時の値 ($7.3 \pm 0.5 \text{ mg/dL}$) と比較すると 1, 25-
(OH) $_2$ D $_3$ 投与後 6 時間 ($8.1 \pm 0.8 \text{ mg/dL}$; $P < 0.05$) と 24~96
時間 ($9.1 \pm 0.7 \sim 8.6 \pm 0.6 \text{ mg/dL}$; $P < 0.01$) で有意に高かった。

血漿 Mg 値は、0 時の値 ($2.1 \pm 0.1 \text{ mg/dL}$) と比較すると、1, 25-
5 (OH) $_2$ D $_3$ 投与後 24 および 48 時間 (1.8 ± 0.1 および $1.8 \pm 0.1 \text{ mg/dL}$) で有意 ($P < 0.01$) に低かった。

本結果では、1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ 投与 2 時間の雌牛にのみ血漿 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ の急激な増加と高まりが観察された。

これにより、牛の膣壁からの 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ の吸収が確認された。

10 なお、上記血漿 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ 濃度変動の様子は、非泌乳、非妊娠の成牛に 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ を筋注して観察した結果と類似している。
また、1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ の主な生理作用は、血漿 Ca および i P 濃度を腸管からの吸収により増加させ高めることであるが、1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ を膣内投与した育成雌牛における本結果は、1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ の静
15 注により血漿中の Ca および i P 値が高いレベルに導かれるのに類似している。

しかしながら、本実験結果ではエタノールを投与した育成雌牛に血漿 i P 濃度の初期の低下とその後の上昇がみられた。

20 ウサギを用いた血漿 i P 値の同様な二相性の変化では、低リン血症はエタノールがエタノールデヒドロゲナーゼによって触媒される代謝過程のために初期におこり、高リン血症はその後エタノールの代謝物であるアセトアルデヒドによって誘導されていると考えられている。

それ故に、本実験の血漿 i P 濃度の変化から 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ ばかりでなくエタノールもまた牛の膣壁を通して吸収されと考えられる。

25 成牛に 1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ を筋注した後あるいは膣内に投与した後の低 Mg 血症の原因は明らかではないが、1, 25- (OH) $_2$ D $_3$ は尿細管の

Mg再吸収を低下させることによってMgの腎排泄の増加を起こすことによると考えられる。

牛の膣上皮の厚さは、卵巢ホルモンの分泌に応答して変化すると考えられている。本実施例で用いた育成雌牛は、春機発動に達していない。それ故に、

- 5 1, 25-(OH)₂D₃の膣からの吸収は膣上皮の厚みの変化が無く、薄いので成牛におけるよりも安定していると考えられる。しかしながら、本実験結果は分娩性低Ca血症の予防に1, 25-(OH)₂D₃の膣内投与が充分可能であることを示している。

10 実施例 3

供試動物として、3～9歳、体重616～804kgの卵巢摘出ホルスタイン雌牛5頭を使用し、1, 25-(OH)₂D₃の膣内投与ルートの用量反応テストを行った。

- 15 雌牛をしきり棒につなぎ毎日5.3kgのオオアワガエリの干し草と、0.18kgのアルファルファの干し草と、0.71kgのビートパルプペレットと1.7kgの市販の穀物ミックスを与え、DM basisによって測定し、水は自由に与えた。毎日のミネラル摂取は、カルシウム48.4g、無機リン20.2g、マグネシウム12.7gとし、これはNRC勧告を十分に超えていた。

- 20 5頭の雌牛は、それぞれ膣内用量レベルとして0.125、0.25、0.5、1.0μg/kg（体重比）、静脈注射用量レベルとして1.0μg/kg（体重比）の1, 25-(OH)₂D₃を2週間以上のインターバルで5×5のラテン方格法に従い投与された。

- 25 使用した1, 25-(OH)₂D₃（メルシャン（株）製）は結晶性粉末の形態で、99%のエタノールに200μg/mLで溶かし、使用するまで-20℃で凍結保存した。

1, 25-(OH)₂D₃0.125、0.25、0.5、1.0μg/kg（体重比）になるよ

うに20%エタノール溶液5 mLとした薬剤を、Split Universal Sheath (IMV Int. Co., France) を用いて直腸腔法で腔内腔に投与した。その後腔内腔から1, 25-(OH)₂D₃溶液が誤って排出されるのを避けるために、陰門が接着剤で接着された。静脈内投与は、血液サンプル採取のために前もって
5 取り付けられたカニューラ(14-gaの動物用カニューラ、ニプロ医工(株)製)を用いて行なった。

ヘパリン血液サンプルは、1, 25-(OH)₂D₃投与の直前(0時間)、2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120時間後にカニューラから採取した。

10 次に、血液を直ちに遠心分離し、血漿中の1, 25-(OH)₂D₃、カルシウム、無機リン、およびマグネシウム濃度を測定した。

1, 25-(OH)₂D₃0.125および1.0 μg/kg(体重比)で腔内投与を行い、1.0 μg/kg(体重比)で静脈投与を行なった雌牛から血液サンプルを採取すると同時に膀胱カテーテル法によって尿を採取し、尿中のクレアチニン、カルシウム、無機リン、マグネシウムの濃度を測定した。血漿および尿
15 サンプルは分析まで-20℃で凍結保存した。

その結果、4つのレベルの1, 25-(OH)₂D₃を腔内投与された雌牛の血漿中1, 25-(OH)₂D₃、カルシウム、無機リン、マグネシウム濃度の変化は有意差があったものの、異なるレベルの1, 25-(OH)₂D₃を投与
20 されたグループ同士の違いは、血漿中1, 25-(OH)₂D₃を除いて、有意差が無かった。同様に、1, 25-(OH)₂D₃を静脈内投与された雌牛の、血漿中カルシウム、無機リン、マグネシウムの変化は有意差があったが、腔内投与と静脈内投与のグループの間には違いはなかった。

0.125、0.25、0.5、1.0 μg/kg(体重比)腔内投与されたときの血漿中
25 1, 25-(OH)₂D₃レベルは、処置後2時間から24時間までの間、0時間(7.4±5.3、6.5±1.3、8.7±5.6、6.6±1.6 pg/mL)に比べて有意に

上昇していた。これらは2時間でピークに達し (2219.3 ± 812.0 、 3448.7 ± 737.9 、 6388.5 ± 1127.4 、 12315.7 ± 2288.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、その後減少した。
0.125 \times 0.5、0.125 \times 1.0、0.25 \times 0.5、0.25 \times 1.0、0.5 \times 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) で1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を投与されたグループの間では有意差があった
5 (図10)。静脈内投与を受けた雌牛では血漿中1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ は投与後2時間後までには腔内投与されたものと同様となり、その後同様に变化した。

腔内投与においては、0.125または0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を投与された雌牛の血漿中カルシウム濃度は12から120時間の
10 間においては、0時間 (8.9 ± 0.5 、 8.9 ± 0.4 mg/dL) と比較して有意に高く、48時間でピークに達した (11.1 ± 0.9 と 11.2 ± 0.7 mg/dL)。そして0.5または1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ 投与の雌牛においては6から120時間の間においては、0時間 (8.9 ± 0.2 と 8.8 ± 0.7 mg/dL) より有意に高く、48時間でピークに達した (11.5 ± 0.6 と 12.0
15 ± 0.6 mg/dL)。1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を静脈内投与された雌牛の血漿中カルシウム濃度の変化 (0時間で 8.8 ± 0.5 mg/dL 、ピークで 11.5 ± 1.2 mg/dL) は、0.5または1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) を腔内投与された雌牛と同様であった (図11)。

0.125, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を投与された雌牛の血
20 漿中無機リン濃度 (0時間では 5.3 ± 1.0 、 5.3 ± 0.6 、 5.4 ± 1.3 mg/dL) は、1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ の腔内投与後24時間で有意に上昇し (それぞれ 7.7 ± 0.8 、 7.9 ± 0.9 、 8.0 ± 1.2 mg/dL)、24時間から120時間までの間に最高値に達した。0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を腔内投与された雌牛では、血漿中無機リンレベルは、12時間から120時間では0時
25 間のレベル (4.7 ± 0.6 mg/dL) と比べて有意に高かった (6.7 ± 0.9 から 8.6 ± 1.2 mg/dL)。1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ を静脈内投与された雌牛の血

漿中無機リン濃度（0時間で $5.2 \pm 1.3 \text{ mg/dL}$ ）の変化は、12時間で増加して（ $7.2 \pm 0.8 \text{ mg/dL}$ ）、24時間から120時間（ 9.1 ± 1.6 から $9.0 \pm 1.2 \text{ mg/dL}$ ）の間に頂点に達した（図12）。

5 臍内投与では、 0.125 , 0.25 , $1.0 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与された雌牛の血漿中マグネシウム濃度は、それぞれの0時間での値（ 2.2 ± 0.2 , 2.0 ± 0.2 , $2.1 \pm 0.1 \text{ mg/dL}$ ）と比べて、24時間から120時間の間では有意に低く（ 1.9 ± 0.1 , 1.8 ± 0.1 , 1.8 ± 0.2 から 1.8 ± 0.3 , 1.7 ± 0.2 , $1.7 \pm 0.4 \text{ mg/dL}$ ）、 $0.5 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与された雌牛では、12時間から120時間の間では0時間での値（ 2.2 ± 0.2 ）と比べて
10 有意に低かった（ 1.9 ± 0.2 から $1.7 \pm 0.2 \text{ mg/dL}$ ）。 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を静脈内投与された雌牛での血漿中マグネシウム濃度の変化は（0時間では $2.2 \pm 0.2 \text{ mg/dL}$ 、24時間から120時間の間では 1.9 ± 0.3 から $1.7 \pm 0.2 \text{ mg/dL}$ ）、 0.125 , 0.5 , $1.0 \mu\text{g/kg}$ の体重比で臍内投与された雌牛と同様であった（図13）。

15 体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を臍内投与されたものと静脈内投与されたもの両方の雌牛で、尿のカルシウム／クレアチニン比（ Ca/Cr ）、無機リン／クレアチニン比（ iP/Cr ）、マグネシウム／クレアチニン比（ Mg/Cr ）の値には有意な変化があった。これらの値は体重比 $0.125 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を臍内投与された雌牛では影
20 響されなかった。体重比 0.125 または $1.0 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を臍内投与された雌牛または体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を静脈内投与された雌牛での Mg/Cr 値はグループ間で有意差があったものの、 Ca/Cr 値と iP/Cr 値はグループ間で有意差がなかった。

体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与されたときの尿 Ca/Cr 値は、臍経由では24時間で有意に上昇し、静脈内経由では12時間
25 と24時間で有意に上昇した（図14）。

体重比 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与されたときの尿 iP/Cre 値は、投与直前の値と比較して、膣経路では 48 時間から 120 時間の間で、静脈経路では 72 時間から 120 時間の間で有意に高かった (図 15)。

- 5 体重比 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与されたときの尿の Mg/Cre 値は、膣経路では 6 時間から 12 時間まで、静脈経路では 6 時間で、有意に高かった (図 16)。

- 5 頭の雌牛の個々のバイオアベイラビリティは 71.1、124.2、113.3、90.0、66.5% であった。なお、バイオアベイラビリティは $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の
- 10 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を膣内投与したものと、同じ量を静脈内投与したものの、血漿濃度-時間曲線の下に対応する領域 (AUC) を比較することによって測定され、膣内投与の AUC の静脈内投与の AUC に対する比をパーセンテージで表した。

- 本結果は、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が卵巣摘出された雌牛の膣内腔内に投与
- 15 されると、4 つの異なる用量全てについて用量比例的に膣壁から吸収されることを示している。また、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が膣内腔内に投与された量と、血漿中のカルシウム、無機リン、マグネシウム濃度の投与後の変化との間には用量相関がなく、尿へのミネラル排出は体重比 $0.125 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与された場合、血漿中カルシウム濃度および無機リン
- 20 濃度の上昇と血漿中マグネシウム濃度の減少にも関わらず影響を受けず、 $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が膣内腔に投与されたうちの約 93% が全身の循環系に入ったものと考えられる。

- 経口投与では用量増加に伴う血清中カルシトリオール (血漿濃度-時間曲線の下に対応する領域) の比例的上昇がみられないことが知られて
- 25 いるが (Muindi らの報告 (2002) ; Pharmacokinetics of high-dose oral calcitriol: Results from a phase I trial of calcitriol and paclitaxel.

Clin. Pharmacol. Ther. 72:648-659.)、本結果は1, 25-(OH)₂D₃が
腔壁から用量依存的に吸収されたことを示しているのでこの点における1,
25-(OH)₂D₃の腔内投与の優位性は明らかである。

1, 25-(OH)₂D₃を4つの用量レベル(30, 90, 270, 600
5 μg)で静脈投与された雌牛は尿中カルシウム排出が増加し、それがステロ
イドの静脈用量とは直接関係しないことが知られているが(Hoffsisらの報告
(1979) ; The use of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the prevention of
parturient hypocalcemia in dairy cows. Bovine Practitioner 13: 88-95.)、
本結果では、体重比0.125 μg/kgを腔内投与された雌牛では、尿中カルシ
10 ウム排出量は、血漿中カルシウム濃度が上昇したにもかかわらず、有意な増
加はなかった。尿中無機リンおよびマグネシウム排出の変化も尿中カルシウ
ムについてと同様な結果を示した。これらの結果は、腔内腔への1, 25-(O
H)₂D₃投与の4つの用量のうち体重比0.125 μg/kgが適当であることを
示している。しかし、最も低い用量レベル(体重比0.125 μg/kg)でも血
15 漿中カルシウムおよびリン濃度が増加して、血漿中マグネシウムは他の用量
レベル同様減少した。

腔経由での1, 25-(OH)₂D₃のバイオアベイラビリティは今まで
知られていなかった。長期の透析を受けた若い患者に60 ng/kgという
一用量のカルシトリオールを投与した後24時間後のバイオアベイラビリ
20 ティーは、経口では62%で、腹腔経由では67%であることが知られている
(Saluskyらの報告(1990) ; Pharmacokinetics of calcitriol in continuous
ambulatory and cycling peritoneal dialysis patients. Am. J. Kidney Dis.
16:126-32.)。この報告では、腸および/または肝臓での初回通過効果
(first-pass effect)と腹膜の透析物システムがバイオアベイラビリティ
25 を低下させたと示唆されている。本結果に示されているバイオアベイラビ
ティ(約93%)は前記報告のものより明らかに高い。よって、本結果は

乳牛に $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与するには膣内腔が効果的なルートであることを示している。

本結果は、膣内腔に投与された $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ は用量比例的に雌牛に吸収されることを示し、より低い用量の $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が雌牛に投与されたときの血液および尿の成分への影響は考えられるが、膣内腔への $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与の用量は最も低い用量（体重比 $0.125 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）が適切であることを示している。

産業上の利用可能性

- 10 ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与する本発明の方法によれば、第1に、医療器具を必要とせず投与が簡単であること、第2に、肝臓における初回通過効果を受けず膣からの物質の吸収が効率良く起ること、第3に、デリバリータイプが豊富でジェル、タブレット、マイクロスフェア、C I D R (controlled internal drug release : 一種のタンポン形式)などの形態
- 15 を投与に利用できること、第4に、血液供給がよく発達した組織により構成された膣を利用するため速やかに吸収されることから、家畜哺乳動物、特に牛の低カルシウム血症による起立不能症等の疾病の予防、治療および／または処置が容易に行える。

請求の範囲

1. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の予防方法。

5

2. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲1に記載の低カルシウム血症の予防方法。

3. ビタミンD誘導体を含む腔内挿入物を腔腔へ投与する請求の範囲1または2に記載の低カルシウム血症の予防方法。

4. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を予防する請求の範囲1乃至3のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

15

5. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である請求の範囲1乃至4のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

6. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の治療方法。

7. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲6に記載の低カルシウム血症の治療方法。

25

8. ビタミンD誘導体を含む腔内挿入物を腔腔へ投与する請求の範囲6また

は 7 に記載の低カルシウム血症の治療方法。

9. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を治療する請求の範囲 6 乃至 5 8 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の治療方法。

10. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である請求の範囲 6 乃至 9 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の治療方法。
11. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の処置方法。

12. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲 11 に記載の低カルシウム血症の 15 処置方法。

13. ビタミンD誘導体を含む腔内挿入物を腔腔へ投与する請求の範囲 11 または 12 に記載の低カルシウム血症の処置方法。

- 20 14. 腔内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の腔腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を処置する請求の範囲 11 乃至 13 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

- 25 15. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃である請求の範囲 11 乃至 14 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

図 1

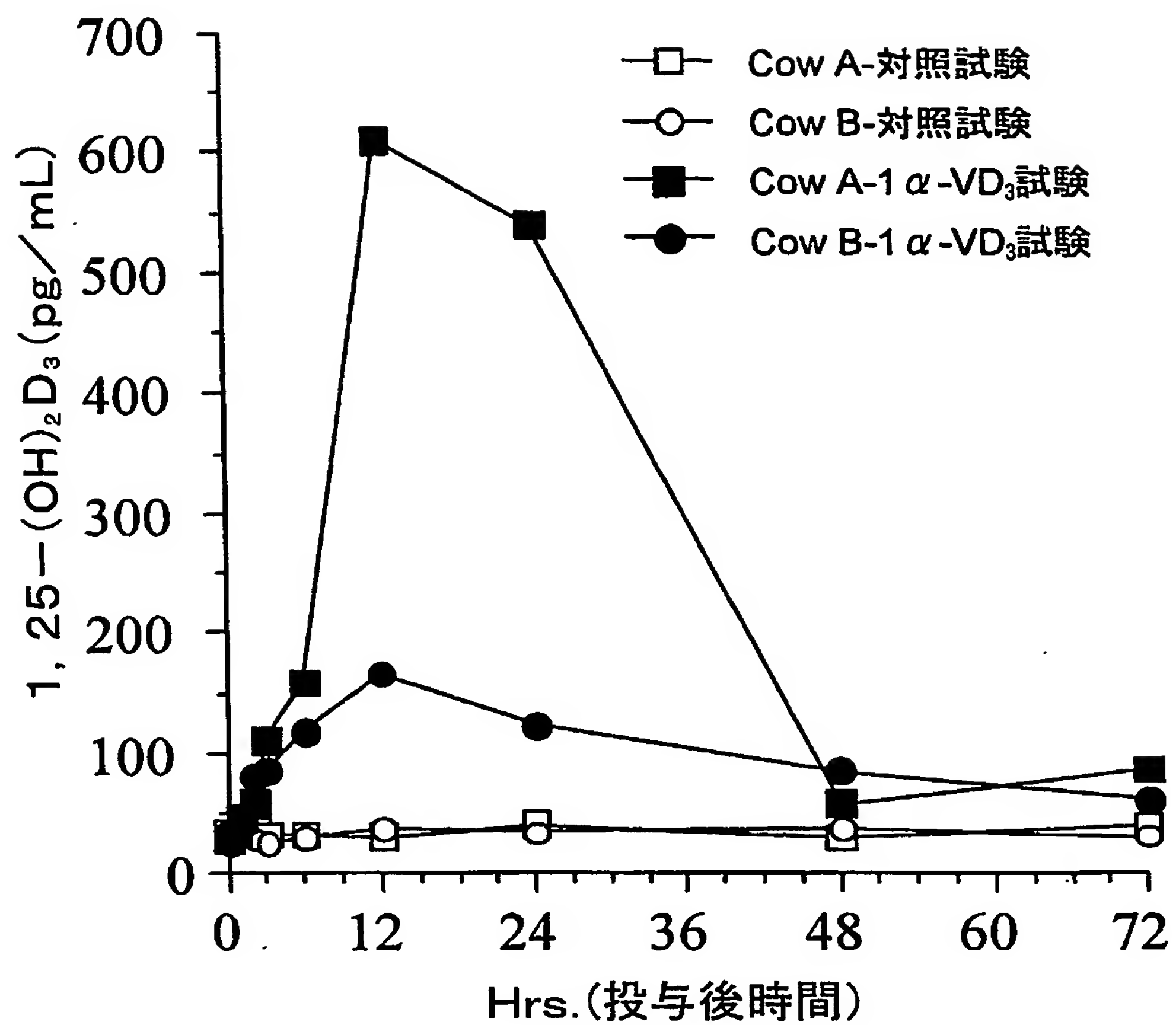


図 2

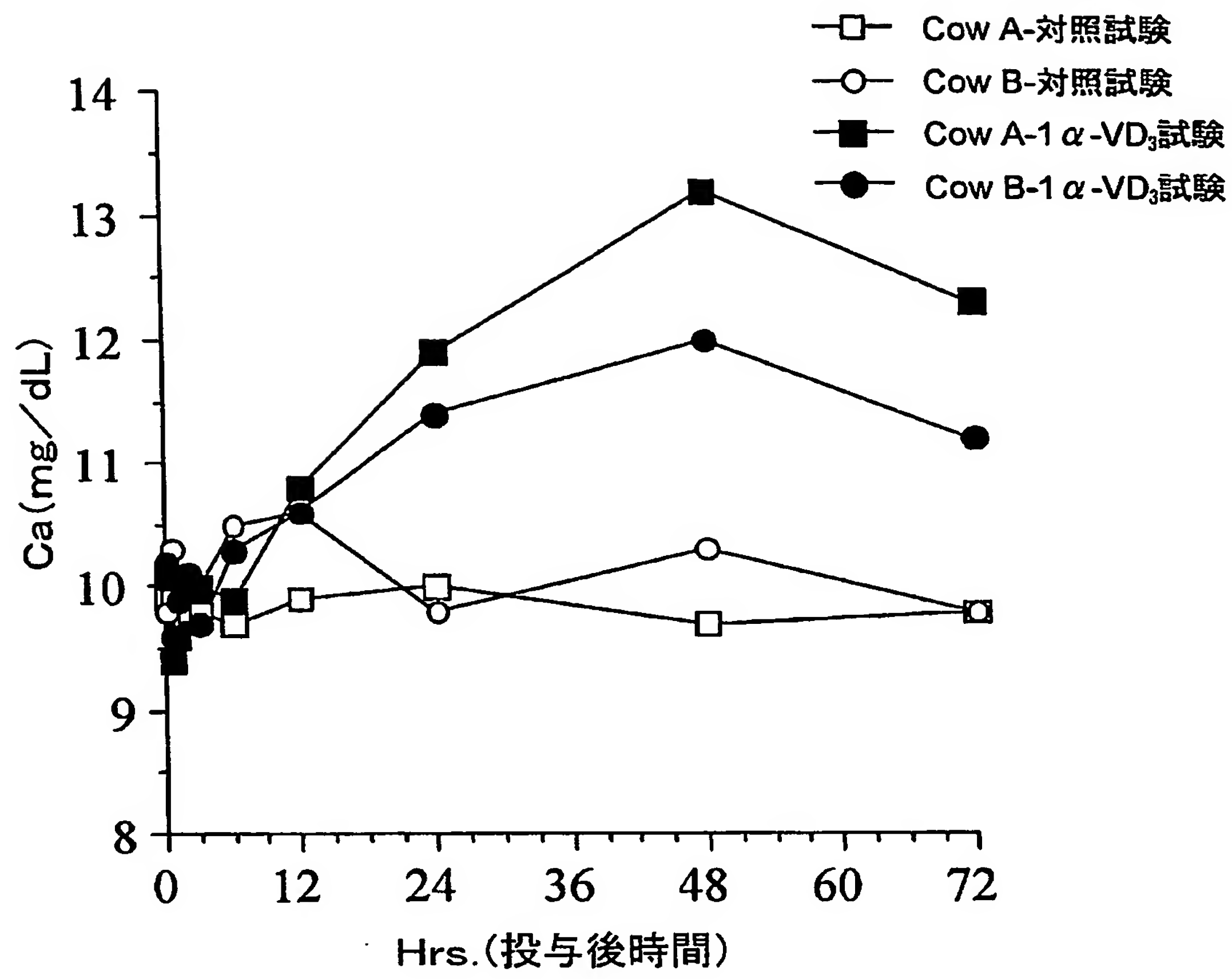


図 3

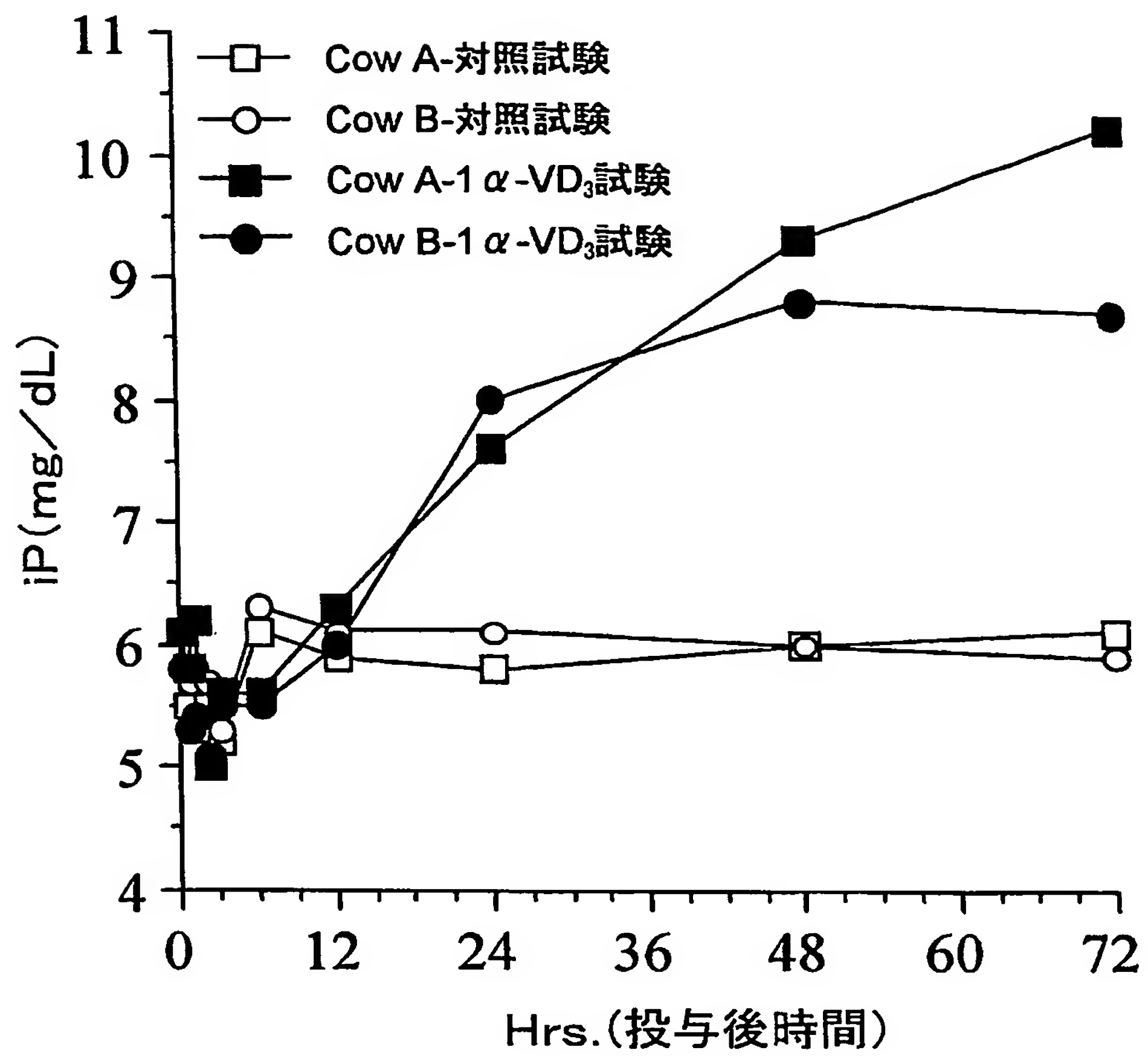


図 4

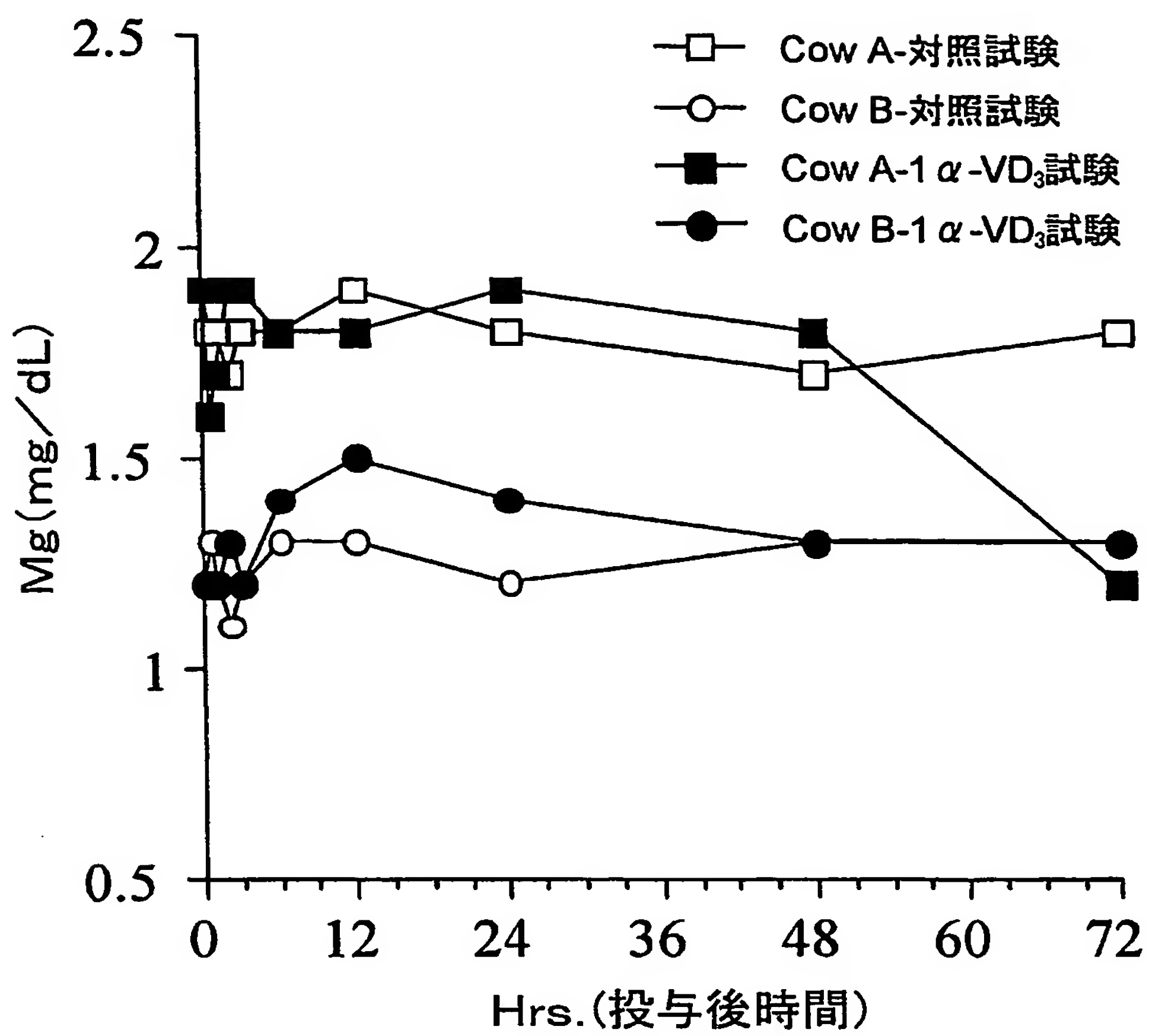


図 5

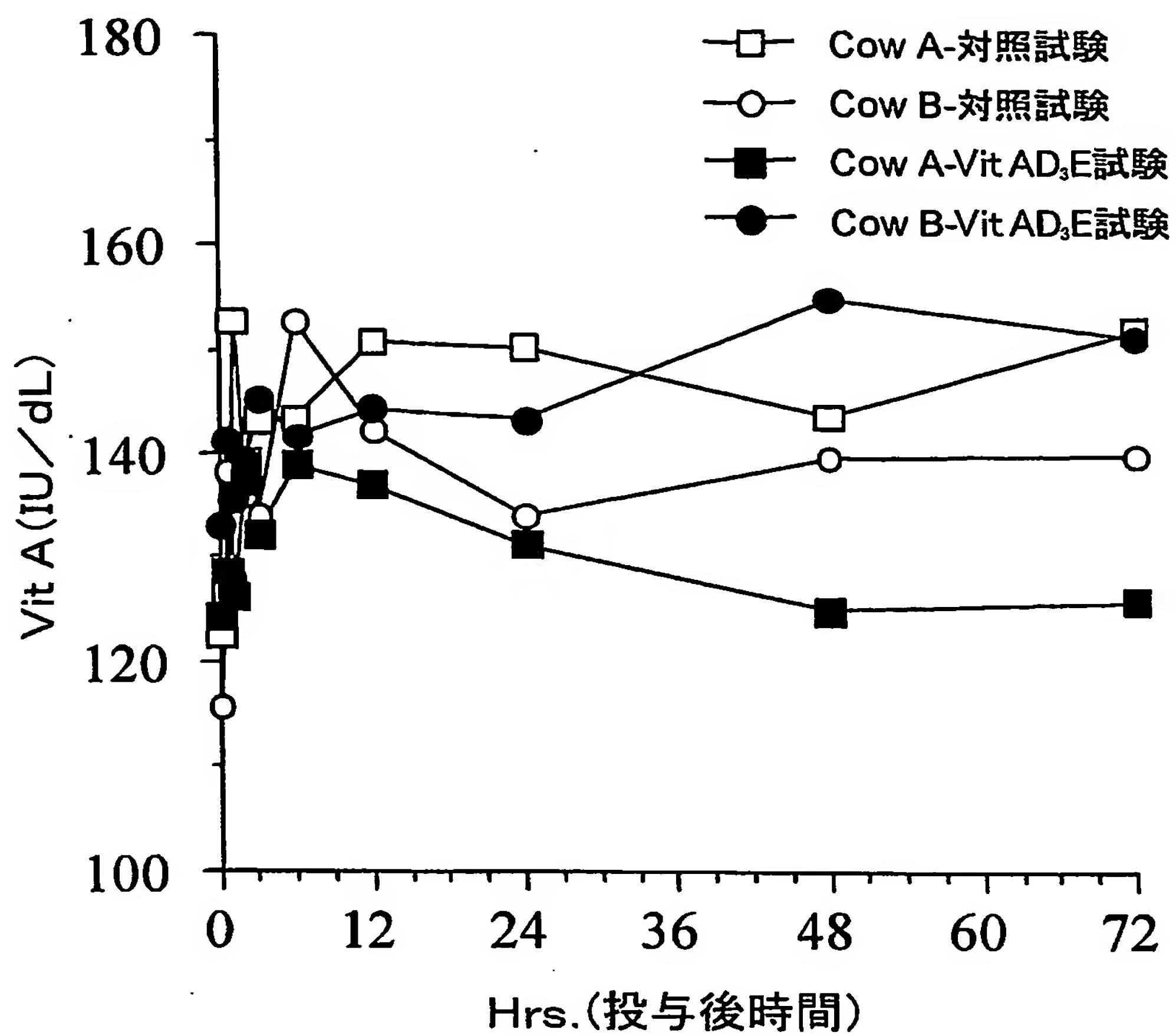


図 6

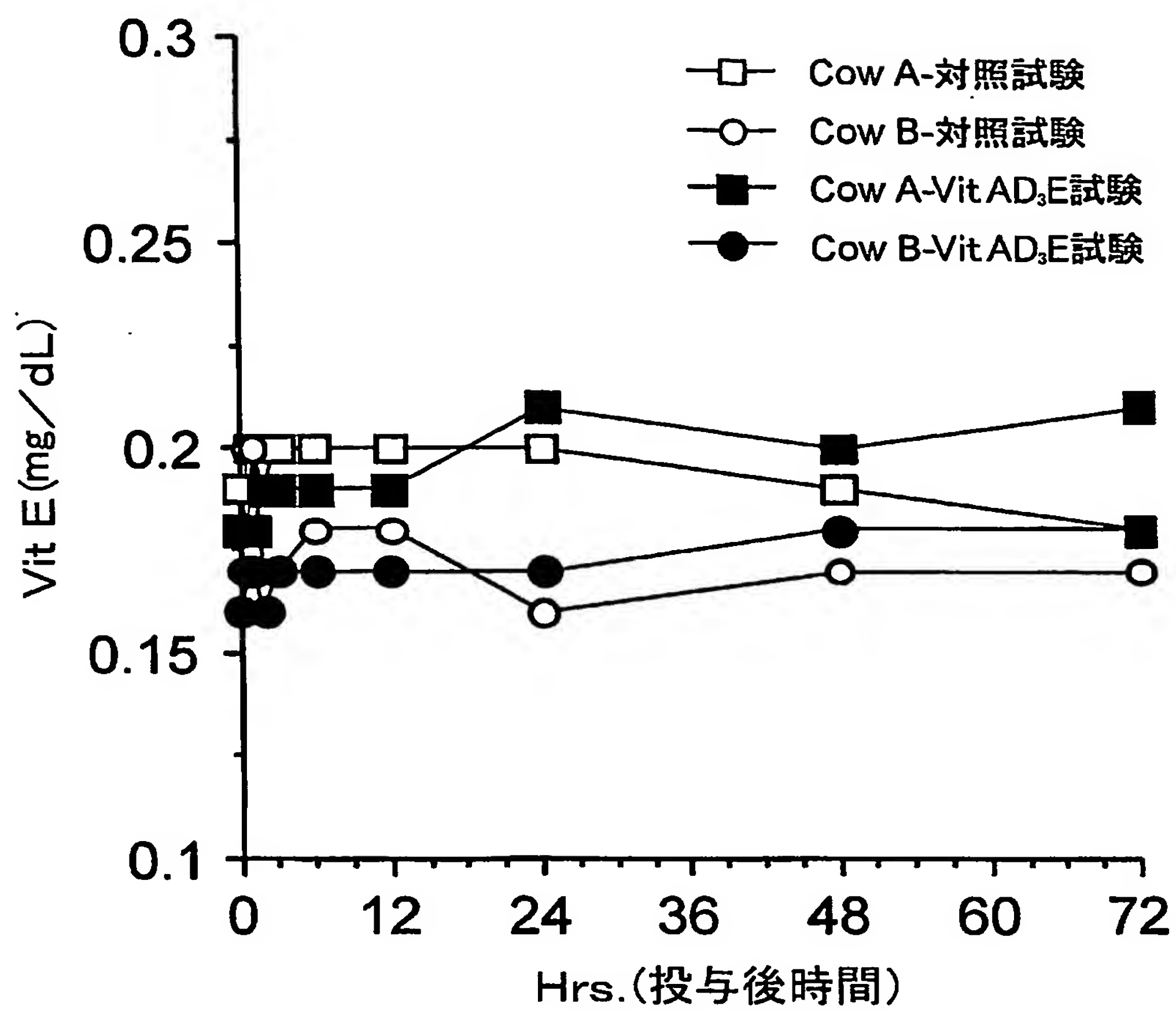


図 7

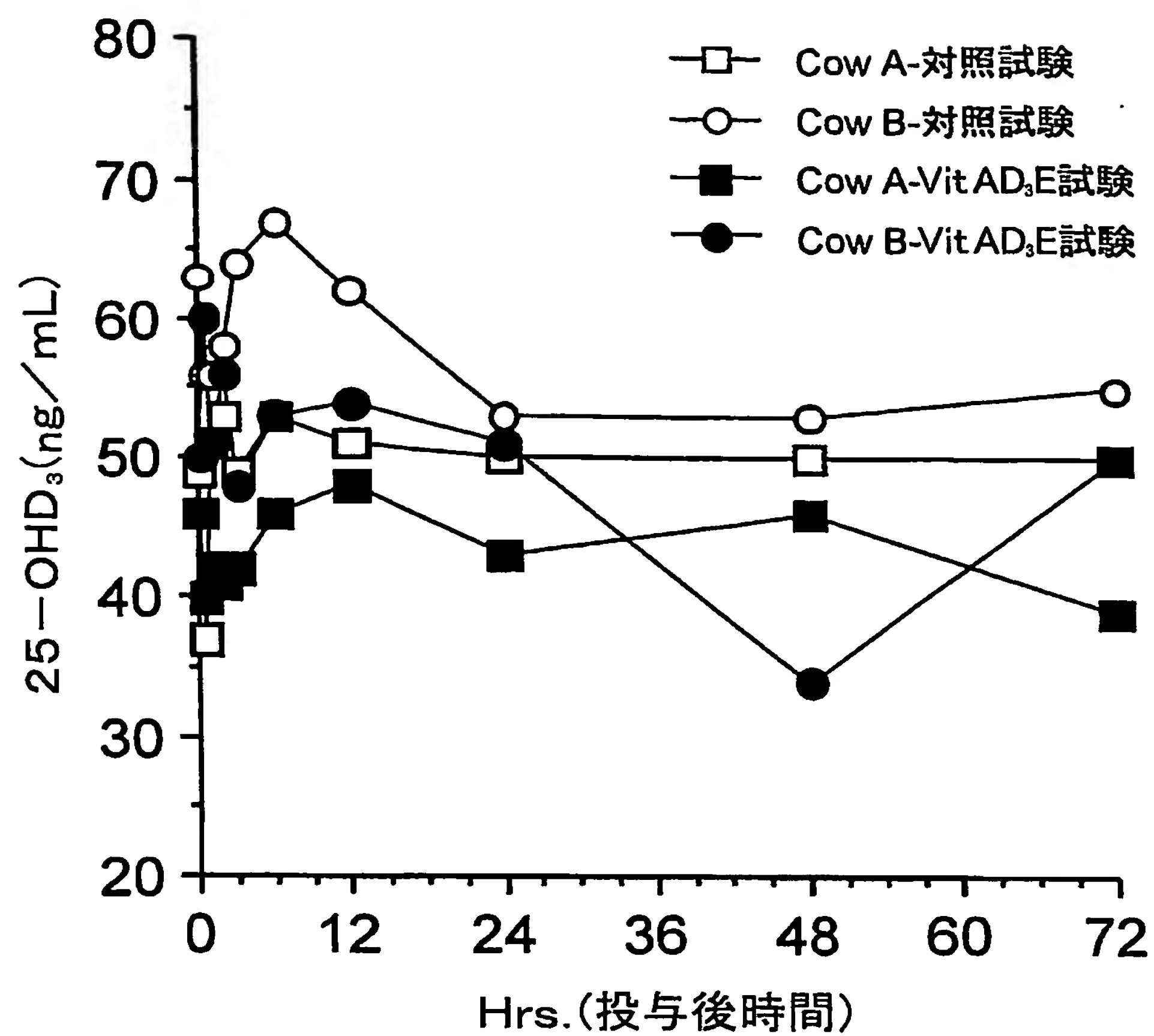


図 8

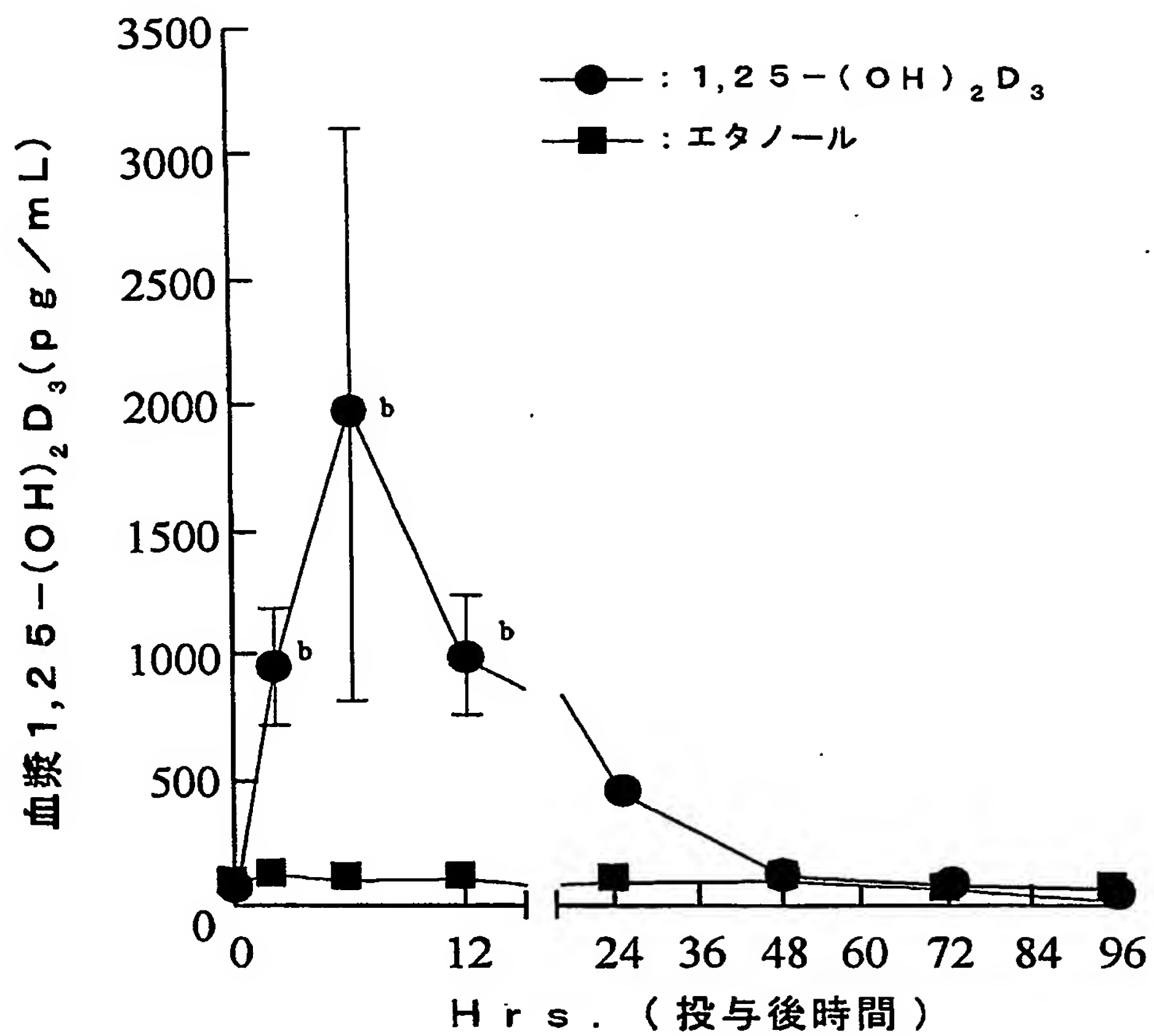


図 9

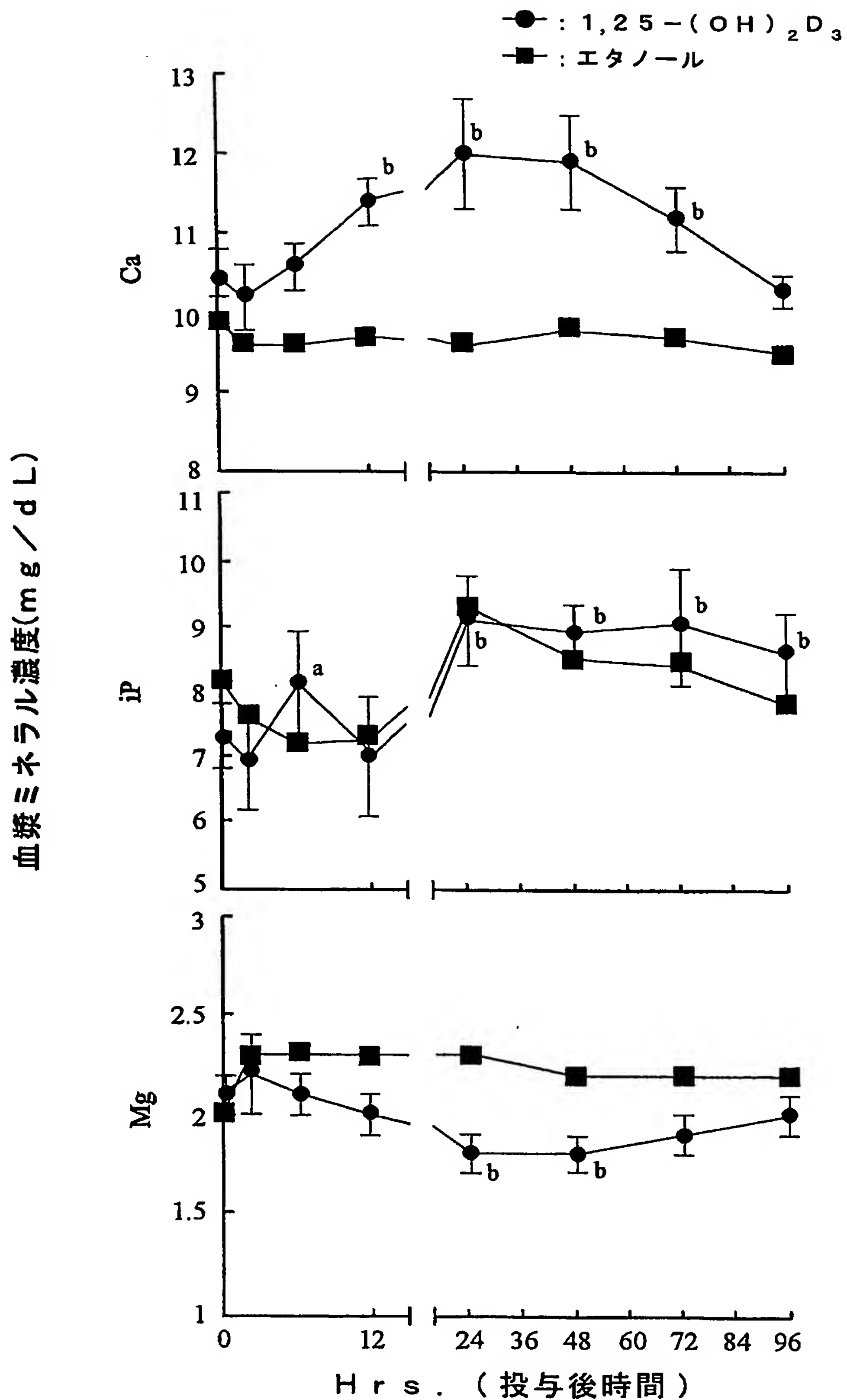


図 10

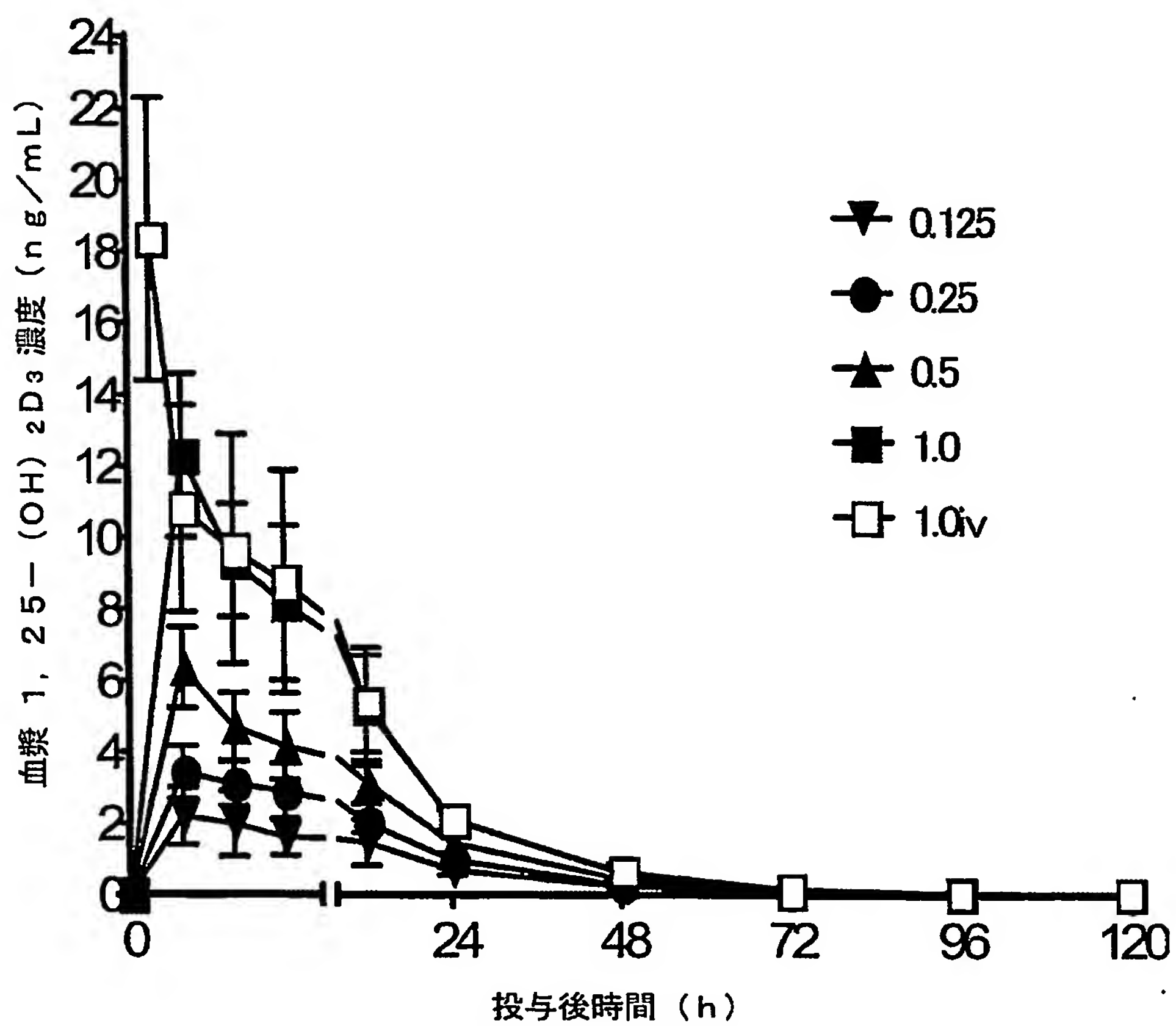


図 1 1

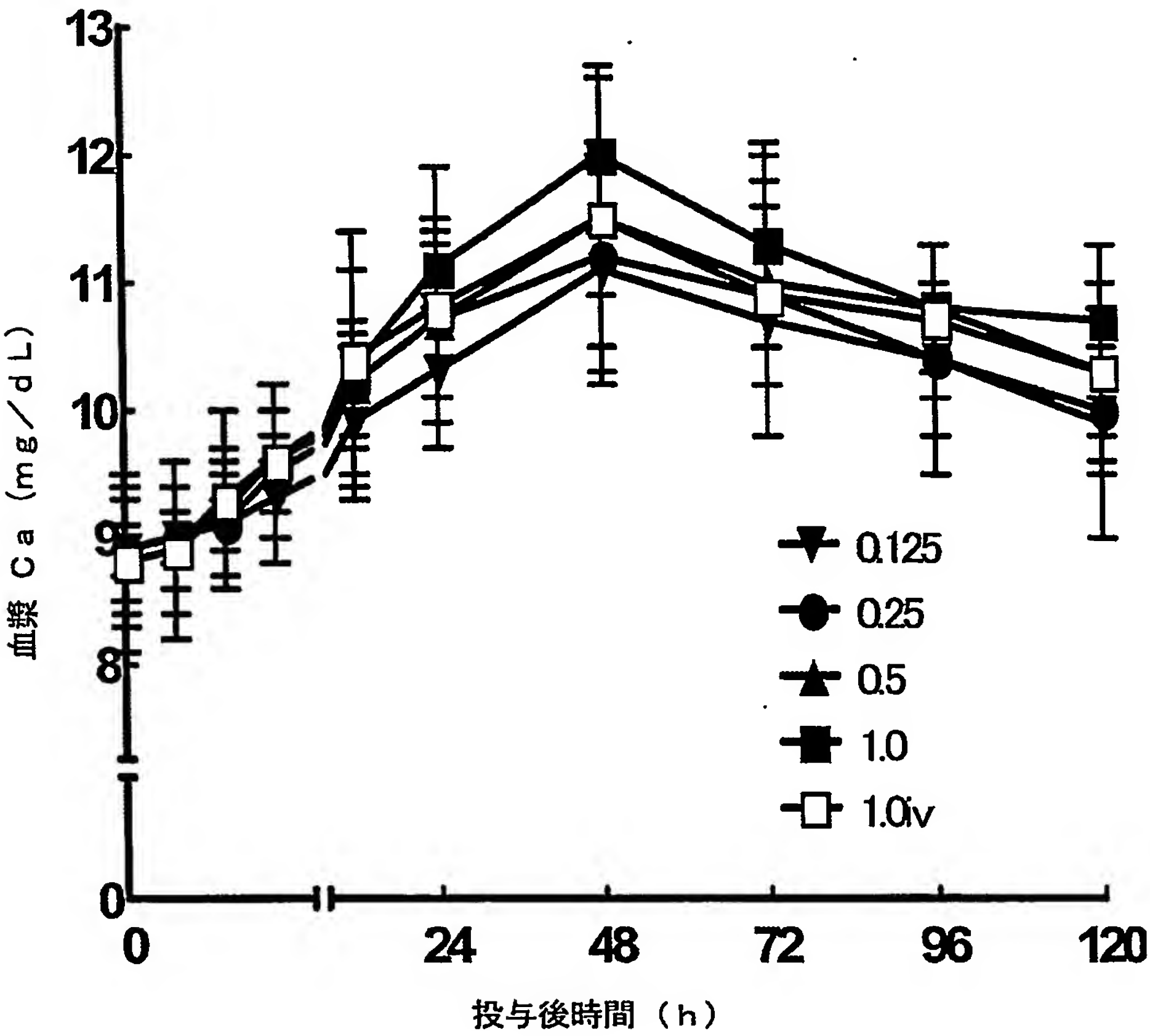


図 1 2

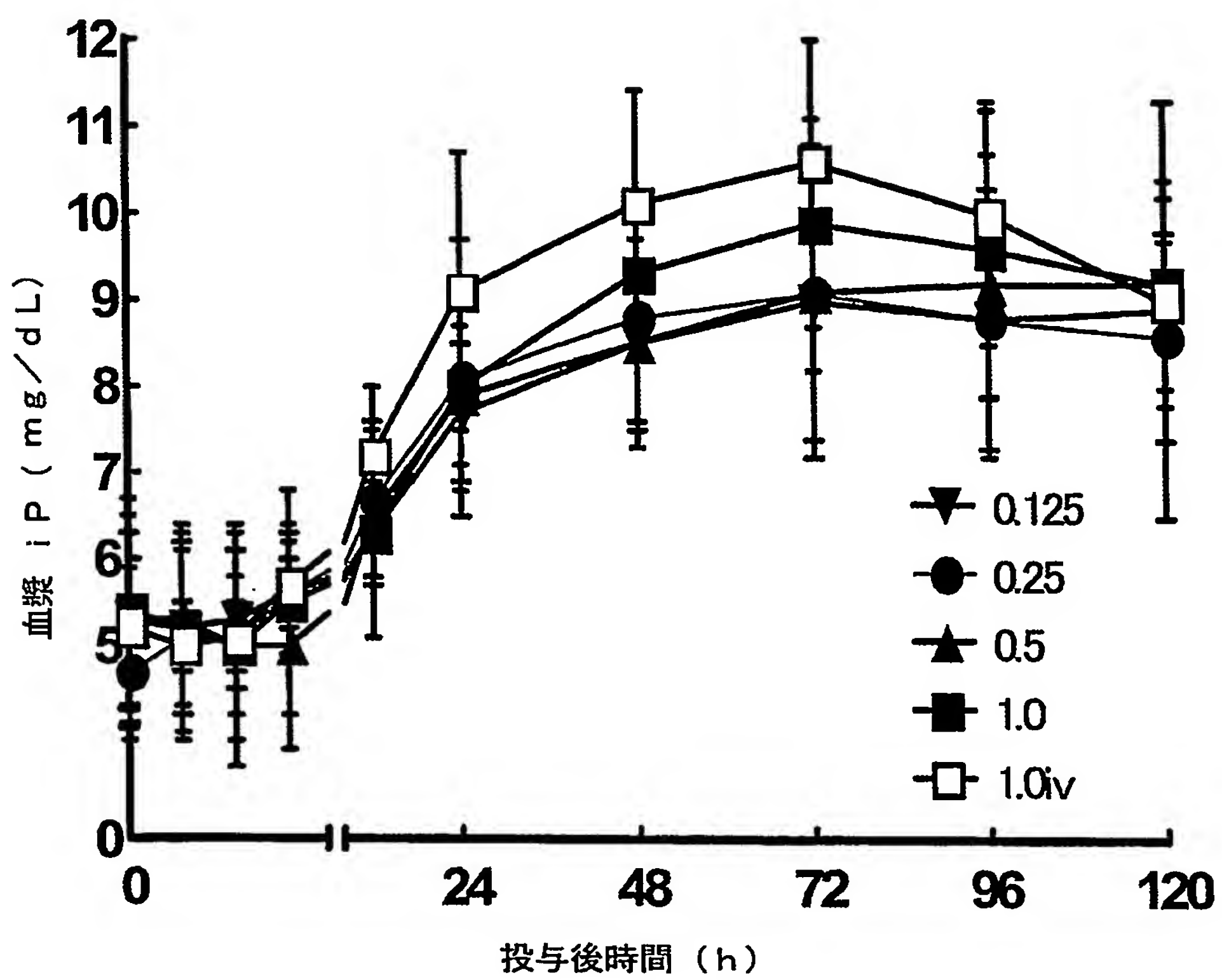


図 1 3

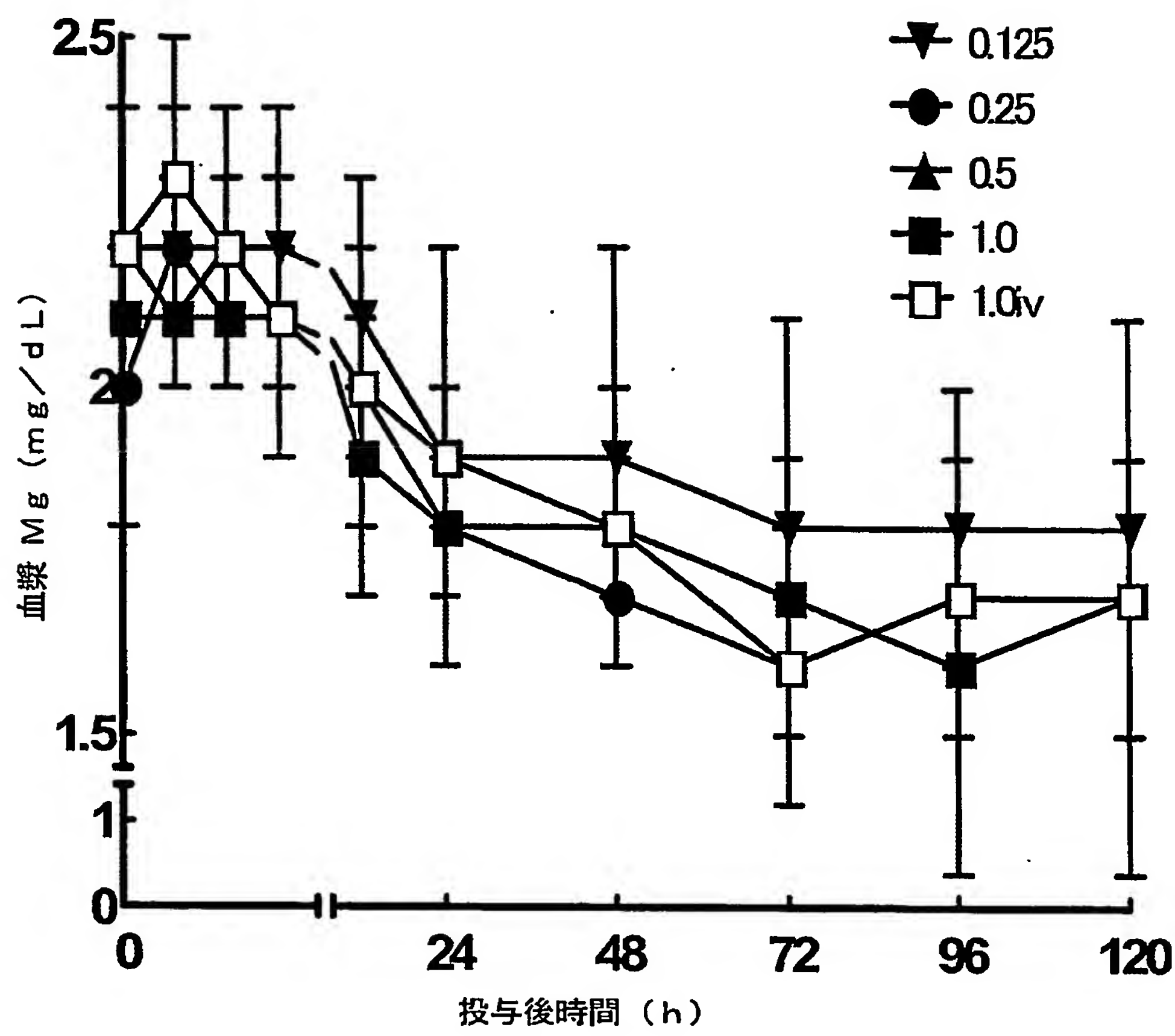


図 1 4

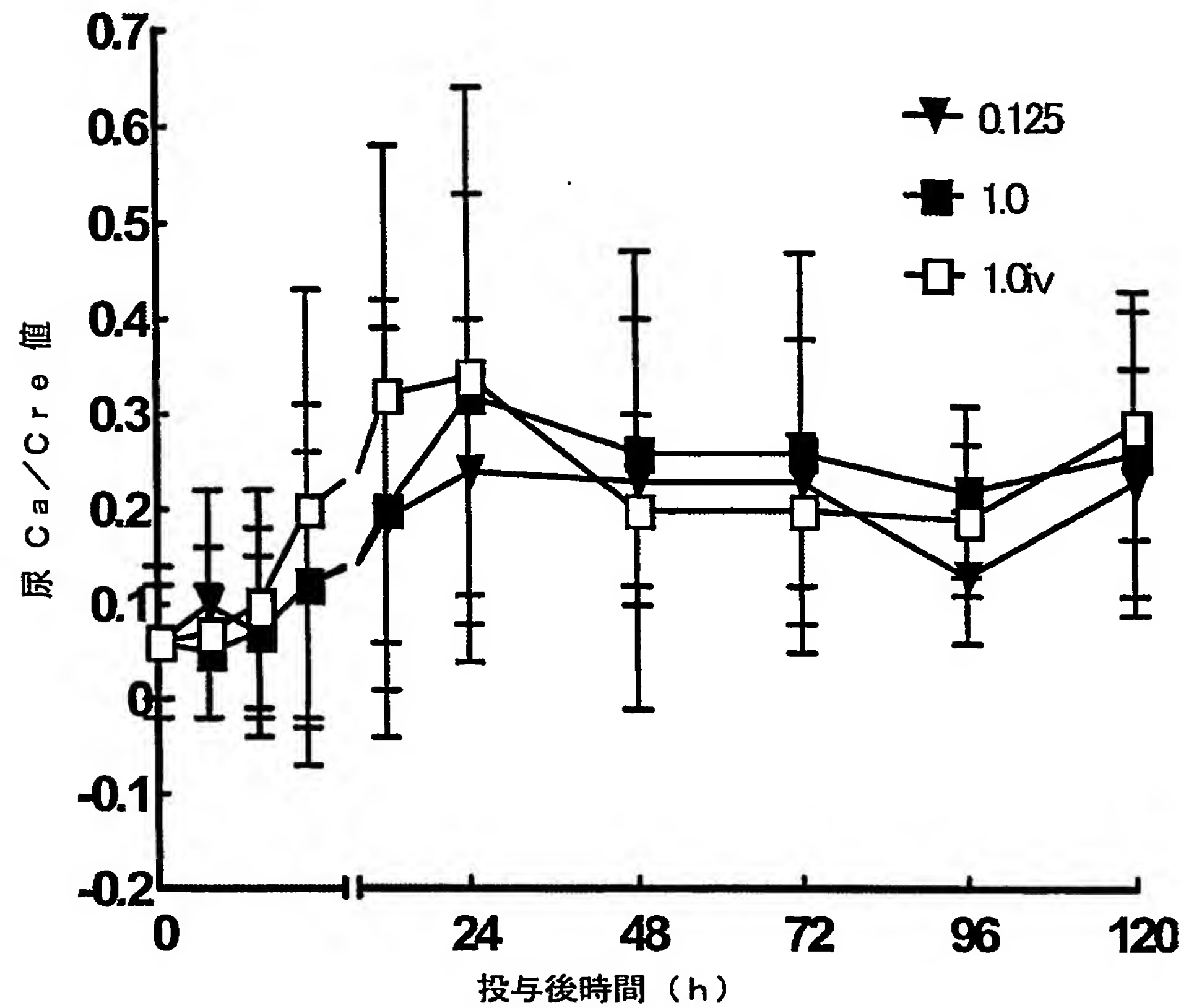


図 1 5

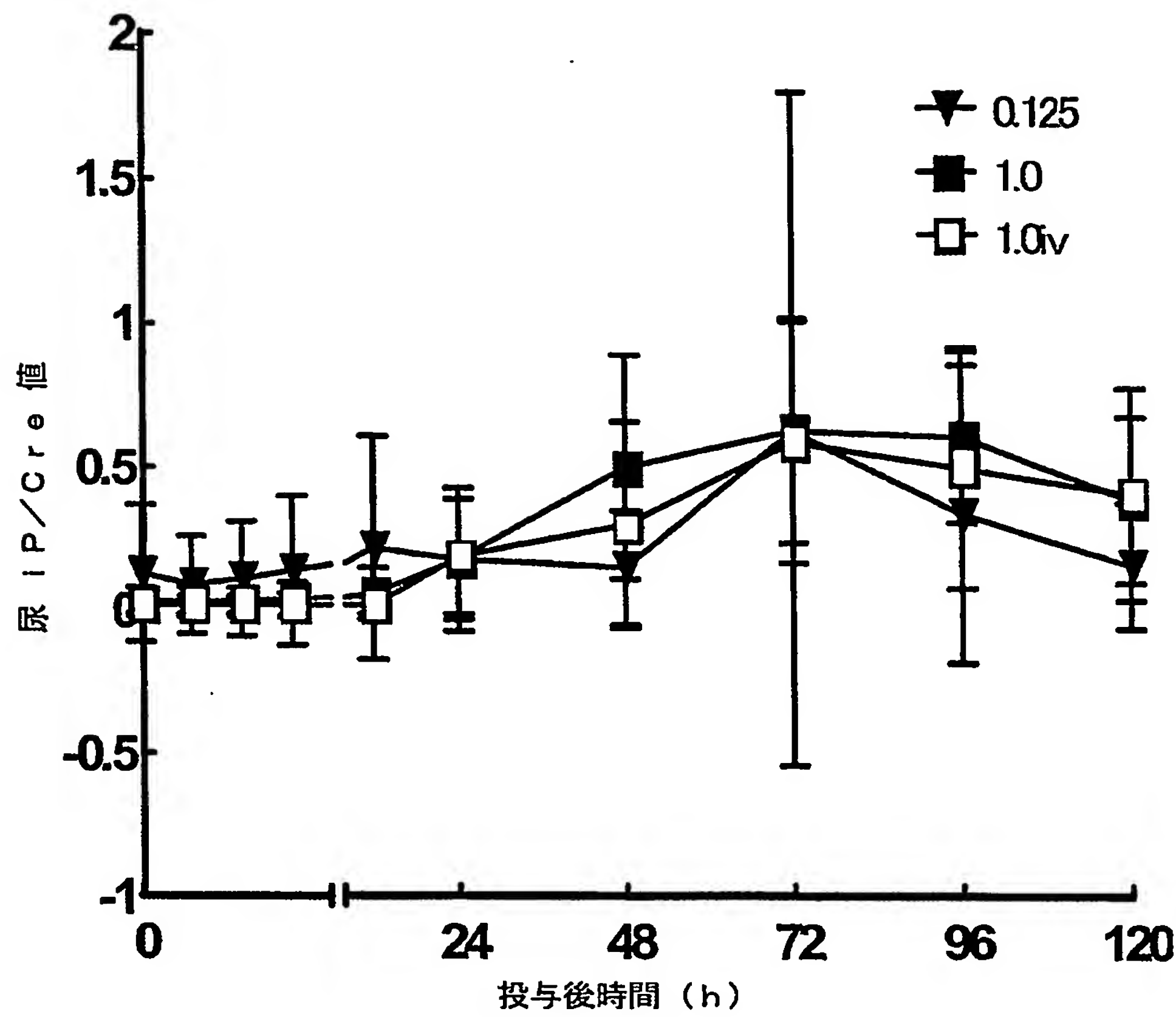
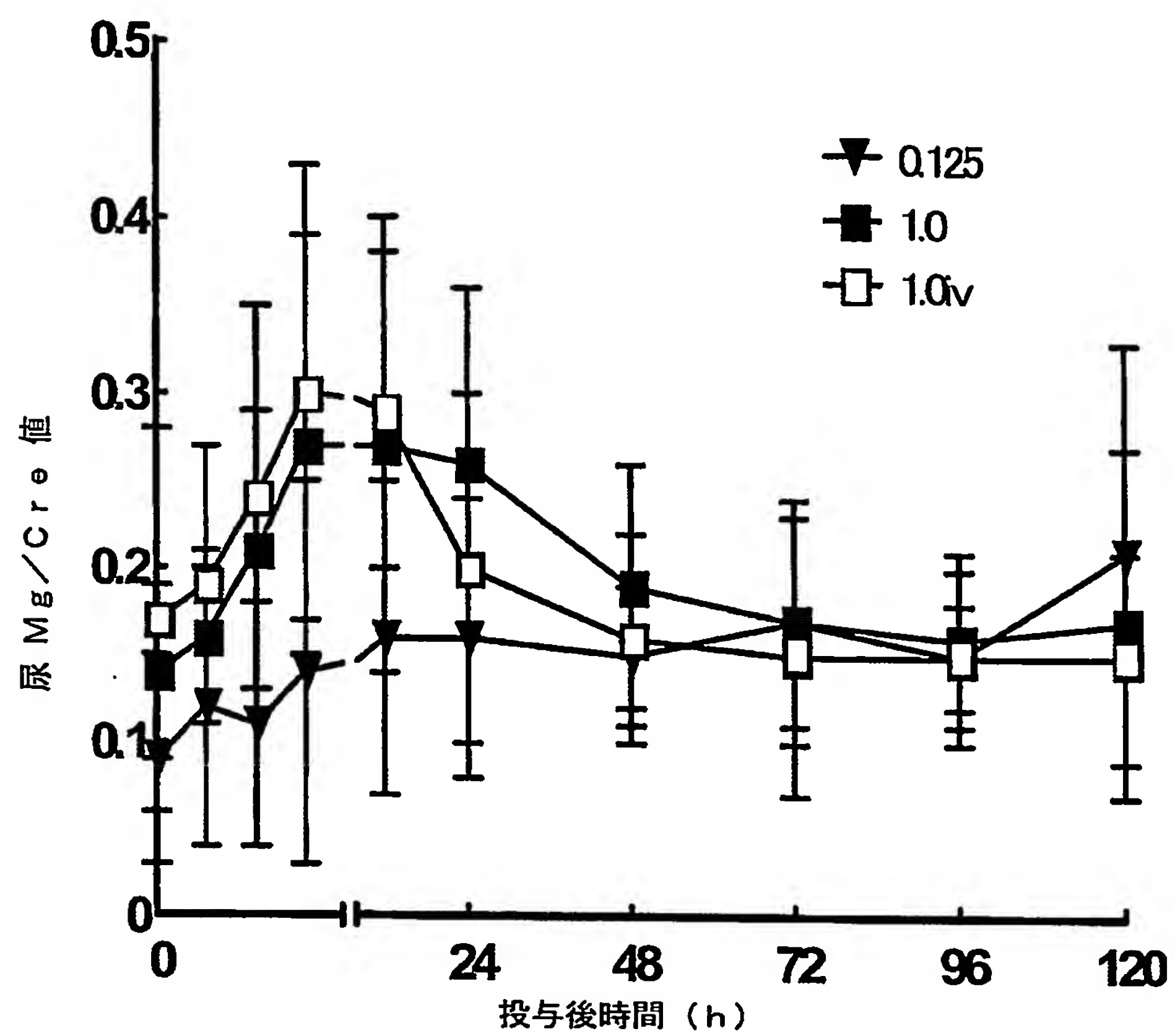


図 1 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002959

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), JSTPLUS (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RO 105130 B1 (INST MEDICINA FARMACIE), 01 October, 1995 (01.10.95), Abstract (Family: none)	1-15
Y	JP 03-501388 A (BONE CARE INTERNATIONAL, INC.), 28 March, 1991 (28.03.91), Full text & WO 90-001321 A2	1-15
Y	JP 61-233620 A (Research Institute for Medicine and Chemistry Inc.), 17 October, 1986 (17.10.86), Full text & US 3901928 A	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 May, 2005 (16.05.05)

Date of mailing of the international search report
31 May, 2005 (31.05.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus (STN), JSTPlus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	RO 105130 B1 (INST MEDICINA FARMACIE), 1995. 10. 01, アブストラクト (ファミリーなし)	1-15
Y	JP 03-501388 A (ボーン・ケア・インターナショナル・インコーポレイテッド) 1991. 03. 28, 全文 & WO 90-001321 A2	1-15

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 05. 2005

国際調査報告の発送日

31. 5. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

川口 裕美子

4C

9829

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 61-233620 A (リサーチ・インステイチュート・フオア・メデイ スン・アンド・ケミストリー・インコーポレイテッド) 1986.10.17, 全文 & US 3901928 A	1-15